

Korunk egyik legfélelmetesebb időskori megbetegedése az Alzheimer-kór (AK), mely fokozatos szellemi hanyatlással jár és kiterjed a mentális képességek valamennyi területére. Az AK az átlagéletkor növekedésével egyre nagyobb mértékben sújtja az idős embereket. Kezelésük és gondozásuk óriási erkölcsi és anyagi terhet ró a családra és a társadalomra. Jelenleg a tünetek egy részének enyhítésére van lehetőség, de ez is csak a betegek egy részénél hatásos. A betegség okait még ma sem ismerjük igazán, jelenleg nem gyógyítható és a terápia is csak tüneti kezelésre alkalmas. Az AK-ban több neurotranszmitter rendszer sérül, azonban legnagyobb csökkenést a kolinerg rendszerben mérték az előagy basalis részén, a nucleus basalis Meinerti-ben. Ennek következtében acetilkolin (ACh) hiány jön létre az agykéregben, a hippocampusban, amygdalában, stb. Az AK kifejlődésének időtartama 10-15 év, amely idő alatt a beteg szellemileg teljesen leépül. Az AK diagnózisa klinikai módszerekkel elég pontosan diagnosztizálható, de végleges diagnózis csak az autopszia után az agy hisztopatológiai vizsgálatával állítható fel.

Egyik legjellemzőbb neurokémiai elváltozás az agyban a kolinerg rendszer hipoaktivitása, amelynek eredménye a neurotranszmitter ACh szintjének csökkenése. Mivel a kognitív működészavar jelentős része a kortikális neurotranszmisszió csökkenésének a következménye, a kolinerg transzmisszió fokozásának javítania kell e funkciókat. A ma alkalmazott terápiák során a kolinészteráz gátlók az ACh-t hidrolizáló enzim az acetilkolinészteráz (AChE, EC: 3.1.1.7) aktivitását csökkentik, és ezáltal az ACh szint emelkedik, melynek következménye az, hogy az ACh a kolinerg receptorokra tovább hat. Az általunk vizsgált négy inhibítorból (takrin, donepezil, rivastigmin és galantamin, jelenleg három van forgalomban a donepezil (Aricept^R) rivastigmine (Exelon^R) és a galantamine (Razadine^R). Kísérleteinkben megvizsgáltuk a fent említett négy kolinészteráz gátló specificitását az AChE és a butirilkolinészteráz (BChE, EC: 3.1.1.8) aktivitására. A BChE a kolinerg rendszer eleme, amely kevésbé specifikusan hidrolizálja az ACh-t, mint az AChE, de feltehetően résztvesz az ACh lebontásában.

In vitro vizsgálatainkhoz a következő humán szöveteket használtuk: agy, vér (szérum). Az inhibitorok IC₅₀ értékét (azon inhibitor koncentrációt, amely 50%-kal gátolja az enzim aktivitását) 3-6 független kísérletből határoztuk meg, amelyben 6-8 különböző koncentrációjú inhibítort használtunk. A négy vizsgált kolinészteráz inhibitor

különbözik egymástól struktúráisan, farmakológiailag és biokémiai hatásmechanizmusában. A galantamine például az enzimgátlás mellett nikotinos ACh receptort is modulálhatja a kolinerg szinapszisokban. Az IC_{50} értékek AChE esetében a következő sorrendet mutatták: donepezil > galantamine > takrin > rivastigmine. A donepezil volt a legspecifikusabb AChE gátló, míg a rivastigmine kettős gátlást mutatott, azaz gátolta mind az AChE mind a BChE-t. BChE-nál (szérumban) a sorrend a következő volt: takrin > rivastigmine > galantamine > donepezil. A takrin sokkal jobban gátolta a BChE-t, mint az AChE-t.

Az AChE polimorf enzim, azaz különböző molekuláris formákban fordul elő: globuláris (monomer, G1, dimer, G2 és tetramer G4) és aszimmetrikus formák (A4, A8, A12), amelynél egy, kettő, vagy három tetramerhez kollagénszerű farokrész kapcsolódik. Mind a mai napig aránylag kevés adat állt rendelkezésünkre arra vonatkozóan, hogy az inhibitorok hogyan hatnak az egyes AChE molekuláris formákra normál és kóros (AK) körülmények között.

A következő AChE inhibitoroknak határoztuk meg az IC_{50} értékét normál és AK-os agy G1 és a G4 molekuláris formákra: tacrine, bis-tacrine, metrifonate, TAK-147, heptil-fizostigmine, galantamine, donepezil, és rivastigmine. A tacrine, bis-tacrine, metrifonate és a TAK-147 egyformán gátolta a G1 és a G4 formákat. A rivastigmine és az heptil-fizostigmine jobban gátolta a G1 formát normál és AD agyban. Ezen adatok arra utalnak, hogy az heptil-fizostigmine és a rivastigmine molekuláris formára szelektív inhibitor, amelyek AK-ban alkalmasak lehetnek terápiás célokra. A legszelektívebb szérumban BuChE inhibitor a rivastigmine volt.

A fent megnevezett négy kolinészteráz gátlók közül jelenleg három van gyógyszerként forgalomban (lásd fent), amelyeket enyhe és közepesen súlyos AK-os betegeknek ajánlanak. A vizsgált inhibitorok közül a karbamát típusú rivastigmine pszeudo-irreverzibilis, míg a takrin, donepezil és a galantamine reverzibilis gátlók. A kolinészteráz gátlók kombinálása nootrop szerekkel, antioxidánsokkal, valamint a különböző típusú gátlók egymás utáni alkalmazása (pl. donepezil kezelés után rivastigmin terápia) elősegítheti a kognitív zavarok tünetjavítását és a legújabb kutatási eredmények alapján az AK progressziójának lassítását. A kolinészteráz gátlószerek néhány évig hatásosak, de a betegség állapotának szinten tartása is javítja a betegek és a

gondozók életkörülményeit. Az AK közepesen súlyos és a súlyos formáinál javasolható még a glutamát receptor antagonistá memantin alkalmazása a neuroprotekción elősegítésére.

Az AK azonban nem feltétlenül csak a központi idegrendszerre koncentrálódik, hanem feltehetőleg szisztematikus, ezért a periférián is pathológias változások lehetnek. Lehetséges markerként használhatók a vér alakos elemei, amelyek vérvétel útján könnyen nyerhetők. Vizsgálati anyagunk AK-os betegektől vett és normál hasonló korú (age matched) vérminta, amelyet az SZTE, ÁOK Pszichiátriai Klinika dementia ambuláns rendelésen megjelenő betegektől és hozzátartozóitól származik. A vérminták vételét a kutatási célra az SZTE, Szent-Györgyi Albert Orvos- és Gyógyszerésztudományi Centrum Regionális Humán Orvosbiológiai Kutatásetikai Bizottsága jóváhagyta. A egészséges idős és AK-os emberek vérmintáiból eritrocitákat, trombocitákat és limfocitákat tisztítottunk, majd meghatároztuk az AChE aktivitásokat. A legmagasabb enzim aktivitást az eritrocitákban mértünk, majd azt követte a limfocita és a trombocita preparátum. Nem volt szignifikáns különbség a vér alakos elemeinek AChE aktivitásában az egészséges és AK betegek között. A vér alakos elemei 3 molekuláris formát tartalmaznak: a globuláris dimer, a globuláris tetramer és az asszimetrikus formát. A globuláris monomer forma nem volt jelen a vizsgált mintákban. Az eritrocitákban a fő forma a G2, a G4 és az A12 mennyisége kevesebb, mint 2%. A limfocitákban és a trombocitákban a legnagyobb mennyiségben a G2-es forma mutatható ki (az össz mennyiség 80%-a). A G4-es és az A12 forma megoszlása kb egyenlő volt. Az AChE aktivitása és a egyes molekuláris formák szedimentációs koefficiense nem mutatott különbséget az egészséges és az AK-os (enyhe és közepesen súlyos) csoport között. Szignifikáns különbséget mutattunk ki a két csoportban az A12 formák %-os megoszlásánál. Nevezetesen, a kontroll csoporthoz viszonyítva az AK-ban az A12-es forma mennyisége a limfocitákban 148%-ra, a trombocitákban 161%-ra nőtt.

AK biztos kockázati tényezői közé tartozik a családban előforduló úgynevezett familiáris forma, az életkor, a nem (nőknél gyakoribb a magasabb életkor miatt) és az apolipoprotein E (ApoE) gén $\epsilon 4$ alléljének jelenléte. A BCHE gén egyik variánsa a BCHE-K allél, amelyre az jellemző, hogy enzim aktivitása 30%-kal kisebb, mint a normál allélé. Az irodalmi adatok ellentmondásosak abból a szempontból, hogy a BCHE-

K jelenléte rizikófaktor-e az AK-os beteg csoportban. Ezért elvégeztük az egészséges idős és az AK csoport limfocitáinak DNS-éből az ApoE és a BChE és a BCHE-K variáns alléljeinek tipizálását polimeráz lánc reakcióval. Megállapítottuk, hogy az irodalmi adatokkal megegyezve (más országokban elvégzett kísérletekkel hasonlóan), hogy az ApoE4 allél szignifikánsan nagyobb frekvenciával fordul elő a magyar AK-os populációban is a kontrollhoz képest. BUCHE-K-nál ilyen különbség nem mutatható ki. Megállapítottuk továbbá, hogy a két vizsgált gén között nincs szinergizmus.

A perifériás markerek vizsgálata (eritrocita, trombocita és limfocita AChE) összekapcsolható az ApoE polimorfizmusának meghatározásával minden olyan beteg esetében, ahol pszichológiai és más tesztek alapján feltételezhető az AK. A kettő együttesen új információkat nyújthat a AK korai diagnózisának felállítására és a betegség rizikófaktorainak jobb megismeréséhez.